

۱-سیمین نامی گرمی: کارشناس علوم آزمایشگاهی
۲-بهشته غریبی: کارشناس آزمایشگاه

کاربردهای هیبریداسیون درجا فلورسنت

Fluorescent in situ hybridization(FISH)

کاربردهای هیبریداسیون درجا فلورسنت

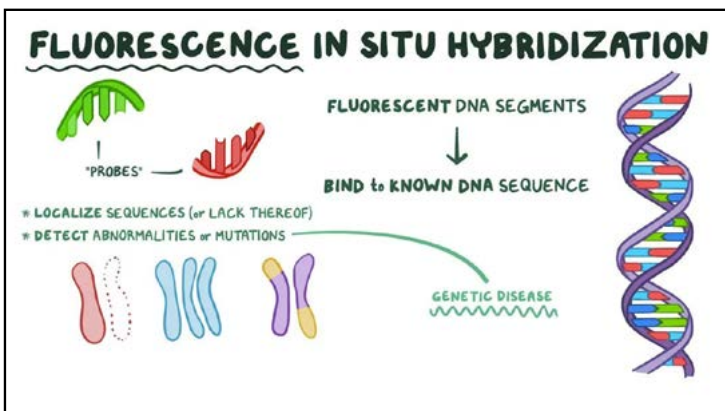
۱. تشخیص قبل از تولد ناهنجاری های کروموزومی

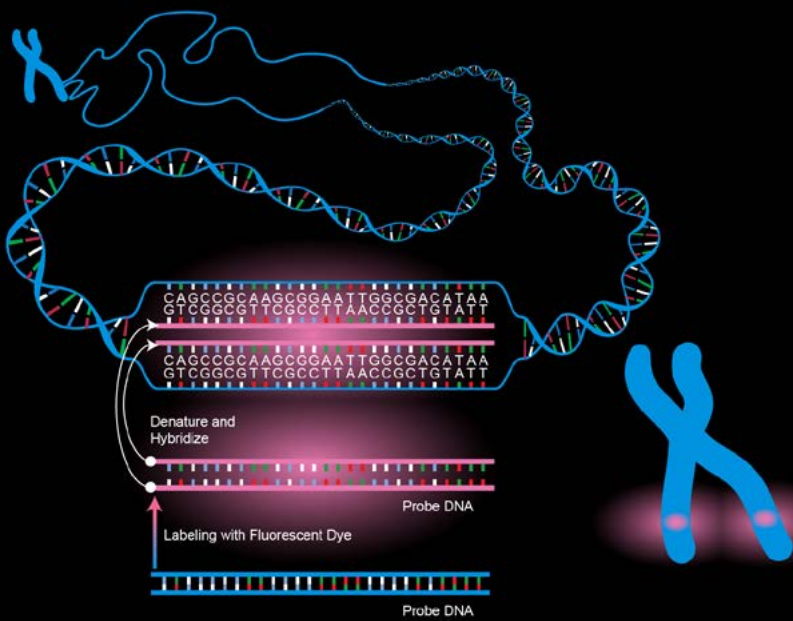
تشخیص پیش از تولد برای تعیین سلامت و ناهنجاری های مادرزادی در جنین متولد نشده حیاتی است. ناهنجاری های شایع کروموزومی شامل سندرم پاتو (وجود یک نسخه اضافی از کروموزوم ۱۳)، سندرم ادوارد (وجود یک نسخه اضافی از کروموزوم ۱۸) و سندرم داون (وجود یک نسخه اضافی از کروموزوم ۲۱) است.

هنگامی که یک پروب DNA فلورسنت در برابر مناطق سالم کروموزوم های ۱۳، ۱۸ یا ۲۱ آزمایش می شود، دو سیگنال فلورسنت مربوط به دو کروموزوم مشاهده می شود. با این حال، در صورت تکرار ژن یا وجود یک نسخه اضافی از یک کروموزوم، سه سیگنال فلورسنت قابل مشاهده است. بنابراین، FISH منجر به تشخیص آسان اختلالات مادرزادی شده است که ممکن است به راحتی در زیر میکروسکوپ قابل مشاهده نباشد.

هیبریداسیون درجا فلورسنت (FISH) یک تکنیک ژنتیکی است که برای تشخیص بیماری های مادرزادی مانند سندرم داون و سندرم ادوارد استفاده می شود. همچنین برای تشخیص سرطان و تشخیص بیماری های عفونی استفاده شده است.

DNA در سلول های ما شامل یک مارپیچ دوتایی یا دو رشته DNA است که به طور مکرر به دور یکدیگر پیچیده می شوند. هر رشته شامل یک توالی از چهار باز است: آدنین (A)، گوانین (G)، سیتوزین (C) و تیمین (T). هر پایه در یک رشته با استفاده از پیوند هیدروژنی با پایه مکمل خود در رشته دیگر جفت می شود (جفت A با T، جفت C با G). میل ترکیبی بالایی که جفت های باز مکمل (A-T، C-G) به شریک مربوطه خود متصل می شوند، «هیبریداسیون» نامیده می شود. هیبریداسیون اساس هیبریداسیون فلورسانس درجا یا FISH را تشکیل می دهد. در FISH، رشته های DNA کوچکی که با یک پروب فلورسنت برچسب گذاری شده اند، اجازه دارند به قطعاتی از DNA فرد، مربوط به یک ناحیه ژنومی خاص، متصل شوند. این برای ارزیابی تعداد کروموزوم یا کپی ژن مفید است. اگر تکراری وجود داشته باشد، مقدار بیشتری از پروب با DNA نمونه هیبرید می شود و فلورسانس بیشتری تشخیص داده می شود. اگر حذفی در ژنوم وجود داشته باشد، کاوشگر نمی تواند به ناحیه مکمل خود بچسبد زیرا وجود ندارد و فلورسانس تشخیص داده نخواهد شد. این تکنیک برای خدمت به اهداف تشخیصی در پزشکی بالینی استفاده شده است.





۲. تشخیص انواع تعداد کپی (CNVs) در بزرگسالان

انواع مختلف پروب های FISH می توانند انحرافات کروموزومی مختلف را تشخیص دهند. کاوشگرهای مخصوص یک مکان ژنی خاص می توانند همجوشی ژن، آنیوپلوئیدی یا تعداد غیرطبیعی کروموزوم ها و از دست دادن ناحیه کروموزومی یا کل کروموزوم را در بزرگسالان تعیین کنند.

FISH دارای وضوح ۵۰ برابر بیشتر از

رنگ آمیزی مرسوم Giemsa برای تشخیص

بیماری های ژنتیکی است. رنگ آمیزی گیمسا الگوهای روشن و تاریک یوکروماتین و هتروکروماتین را بین شاهد و مورد آزمایش مقایسه می کند تا عیوب را تشخیص دهد، در حالی که FISH براساس تجسم مستقیم مناطق خاصی از ژنوم است. همچنین زمان کمتری نسبت به کاریوتایپینگ دارد که به کشت سلول ها و متعاقبا توقف در متافاز برای مشاهده ویژگی های ساختاری کروموزوم ها نیاز دارد.

۳. تشخیص سرطان

FISH به طور گسترده برای تشخیص ناهنجاری های کروموزومی مرتبط با سرطان استفاده می شود. سرطان سینه HER2 مثبت دارای نسخه های اضافی از ژن HER2 است و آزمایش FISH بر روی بافت سرطان سینه برداشته شده در طول بیوپسی انجام می شود تا نسخه های اضافی ژن شناسایی شود. نسخه های اضافی از ژن HER2 منجر به دریافت گیرنده های HER2 بیشتر در سلول ها می شود و این گیرنده ها سیگنال هایی دریافت می کنند که رشد سلول های سرطان سینه را تحریک می کنند.

FISH همچنین حساسیت بالاتری در تشخیص سرطان دارد. در مورد سرطان مثانه، FISH نسبت به سیتولوژی معمول ۵۰ درصد حساسیت (میزان مثبت واقعی) بالاتری دارد. انحرافات کروموزومی در ۶۰ درصد لوسمی میلوئید حاد و ۹۰-۶۵ درصد لوسمی لنفوسیتی حاد دیده می شود. روش FISH برای تشخیص لوسمی حاد در مقایسه با G-banding که شامل رنگ آمیزی کروموزوم ها با رنگ گیمسا برای ایجاد نوارهای تیره و روشن است که با هتروکروماتین و یوکروماتین

مطابقت دارد، لذا به روش حساس تر و قابل اعتمادتری تبدیل شده است.

۴. تشخیص بیماری های عفونی

RNA ریپوزومی ۱۶S مخصوص گروه فیلوژنتیک (rRNA) در FISH برای شناسایی عوامل عفونی استفاده می شود. توالی های الیگونوکلوئیدی مکمل rRNA ۱۶S (طول ۱۷-۳۴ نوکلئوتید) به عنوان پروب های FISH می توانند برای تجزیه و تحلیل جوامع میکروبی در حفره دهان و فلور دستگاه گوارش استفاده شوند. هم حفره دهان و هم روده به شدت کلونیزه هستند و FISH برای شناسایی پاتوژن ها در جامعه میکروبی استفاده شده است.

پروب های الیگونوکلوئیدی خاص نیز برای شناسایی پاتوژن ها در عفونت های دستگاه تنفسی طراحی شده اند. به طور مشابه، FISH همچنین برای شناسایی عوامل بیماری زا در بافت ها استفاده شده است. پروب های الیگونوکلوئیدی جنس و گونه خاص برای شناسایی میکروارگانیسم های بیماری زا در کشت خون استفاده شده است. برای مثال، پروب های FISH مکمل یک توالی خاص از rRNA ۱۶s می توانند عفونت مالاریا را در نمونه های خون تشخیص دهند.

منبع:

This is a translation into Farsi of an article originally published in English: P, Surat. "Applications of FISH". News-Medical. <https://www.news-medical.net/life-sciences/Applications-of-FISH.aspx>, Last Updated: Jan 19, 2022 .